

Gewebebildung bei Mensch und Tier: Zellbiologische Ansätze zum Verständnis eines komplexen Phänomens

Jockusch, Brigitte M.

Veröffentlicht in:
Jahrbuch 1998 der Braunschweigischen
Wissenschaftlichen Gesellschaft, S.59-64



J. Cramer Verlag, Braunschweig

BRIGITTE M. JOCKUSCH, Braunschweig

Gewebebildung bei Mensch und Tier: Zellbiologische Ansätze zum Verständnis eines komplexen Phänomens

Braunschweig, 17.04.1998*

Aus einer befruchteten Eizelle entwickeln sich bei den vierzelligen Lebewesen durch Teilung und Differenzierung verschiedenartige Zelltypen, die sich durch ihren Bau und ihre Funktion unterscheiden. Die meisten dieser Zellarten bilden im Organismus Verbände aus, die Gewebe. Mehrere Gewebe können zu Organen zusammentreten, die spezifische Aufgaben übernehmen. Bei höheren Wirbeltieren, wie den Vögeln und Säugetieren, zeigen Gewebe und Organe ein begrenztes Wachstum und vergrößern sich im Erwachsenenalter nicht weiter. Vermehrung und weitere Differenzierung der einzelnen Zellen in diesen Verbänden finden jedoch weiterhin statt; dem Organ-Verschleiß wird auf diese Weise durch kontinuierliche Erneuerung entgegengearbeitet. Ein weiterer lebenswichtiger Prozeß, der massive Zellvermehrung und Zelldifferenzierung erfordert, ist die Wundheilung. Für beide Vorgänge ist die Haut ein bekanntes Beispiel: die sich ständig in Form kleiner verhornter Schuppen ablösenden Teilchen zeigen die kontinuierliche Erneuerung in tieferen Hautschichten an, und der Prozeß der Wundheilung ist jedem deutlich, der an sich selbst schon einmal das Schließen einer Schnittwunde beobachtet hat. Im Gegensatz zu vielen anderen Wirbeltieren ist allerdings die Wundheilung beim Menschen recht reduziert. Während unsere Haut ein gutes Regenerationsvermögen besitzt, können wir ausgedehnte Defekte an Knochen, Leber und Muskeln, wie sie zum Beispiel durch Amputationen oder verschiedene Erkrankungen ausgelöst werden, nur sehr unvollständig ausgleichen.

Embryonales Organwachstum, kontinuierliche Erneuerung und Wundheilung stellen an die beteiligten Zellen recht komplexe Aufgaben. Unter anderem muß bei der Zellvermehrung die Zahl der neu entstandenen Zellen kontrolliert werden, damit kein Wachstum über das erwünschte Maß hinaus eintreten kann. Die Differenzierung der entstandenen Zellen, das heißt ihre Spezialisierung auf bestimmte Funktionen, muß exakt einem Programm von Gewebs-spezifischer Genaktivierung folgen. Kontrolliertes Wachstum und Differenzierung der Einzelzelle im Gewebeverband erfordert daher die Fähigkeit der Zellen, ihre Umgebung wahrzunehmen und auf Veränderungen zu reagieren. Die unmittelbare Umgebung der Zellen im Gewebe wird von zwei Komponenten bestimmt: den benachbarten Zellen, sowie von der "extrazellulären Matrix", einem Geflecht fädiger Eiweißkomponenten. Um mit dieser „Umgebung“ kommunizieren zu können, bilden die Zellen spezielle Strukturen aus: die Zell-Zell- und die Zell-Matrixkontakte (Abbildung 1 A). Beide Typen sind für den

* Vortrag vor der Plenarversammlung der Braunschweigischen Wissenschaftlichen Gesellschaft.

Zusammenhalt der Gewebezellen notwendig und dienen außerdem als Meßfühler für Signale, die den einzelnen Zellen ihre Position im Gewebe mitteilen, und Befehle für das An- oder Abschalten spezieller Gene als Grundlage für Zellteilung und Differenzierung übermitteln. Die Wichtigkeit dieser Kommunikation der Zellen mit ihrer Umwelt wird bei Fehlern und Entgleisungen in diesem Prozeß deutlich: Fehlerhafte Kontrolle in diesem Vorgang führt zum Beispiel zur Hypertrophie eines Gewebes (wie man das bei der Narbenbildung der Haut beobachten kann). Auch Tumorbildung und Metastasierung von Tumoren führen wir heute auf Fehler oder Mangel in der Kontrolle von Wachstum und Differenzierung gewebebildender Zellen zurück (Abbildung 1 B).

Zell-Zell- und Zell-Matrix-Kontakte sind als diskrete Strukturen an der Zellmembran im Elektronenmikroskop erkennbar. Biochemische Analysen haben ergeben, daß sie viele verschiedene Proteine enthalten, von denen die meisten auf der intrazellulären Seite der Kontakte angeordnet sind. Diese Komplexe sind durch weitere Proteine, die sogenannten Transmembranproteine, mit der Außenseite der Zellen, also entweder mit Nachbarzellen oder mit der extrazellulären Matrix verbunden. Die Analyse der einzelnen Komponenten der Zellkontakte und die Wirkungsweise dieser Strukturen als physische Mittler zwischen Zellen und der Matrix, sowie als Befehlsüberträger ist ein wichtiges Gebiet der Zellbiologie und der Biomedizin. Weltweit arbeiten viele Arbeitsgruppen daran, diese Strukturen auf molekularer Ebene zu verstehen. Bisher hat sich herausgestellt, daß die Zellkontakte aus einer verblüffend großen Zahl einzelner Eiweißkomponenten bestehen, die in wechselnder Zusammensetzung hochorganisierte Ankerstrukturen ausbilden, wobei die einzelnen Proteine als Bausteine, oder als Signalüberträger, oder in beiden Funktionen agieren können. Das Verständnis der Architektur dieser zellularen Strukturen wird noch dadurch kompliziert, daß diese Gebilde, im Gegensatz zum Beispiel zu den ebenfalls aus vielen Bauelementen bestehenden, komplexen Gefügen wie Brücken oder Gewölben, trotz ihres hohen Ordnungsgrades sehr dynamisch sind: sie können in wenigen Minuten gebildet und wieder aufgelöst werden.

Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich seit einigen Jahren mit der Analyse von Zellkontakten bei menschlichen und tierischen Zellen, wobei uns besonders folgende Fragen interessieren:

- Welche Proteine sind an ihrem Aufbau beteiligt?
- Welche Eigenschaften besitzen die einzelnen Proteinbausteine, um den Kontakten ihre typischen Funktionen zu verleihen?
- Wie regulieren Zellen den Bau, die Lebensdauer und die Dynamik der Kontakte?
- Welche molekularen Mechanismen werden beim Übergang von normalen Geweben zu invasiven Krebszellen fehlgesteuert?

Zur Beantwortung dieser Fragen haben wir eine reichhaltige Palette verschiedener Methoden der modernen Biologie zur Verfügung.

Zunächst ist es sinnvoll, die Zellkontakte nicht im Gewebe von Tieren zu studieren, sondern in Zellkultur. Da normale Gewebezellen in Kulturschalen in einer Schicht von nur einer Zelldicke wachsen, kann man sie leicht mikroskopisch beobachten, und auch manipulieren. Es gibt eine Vielzahl sogenannter Zell-Linien, die aus verschiedenen tierischen

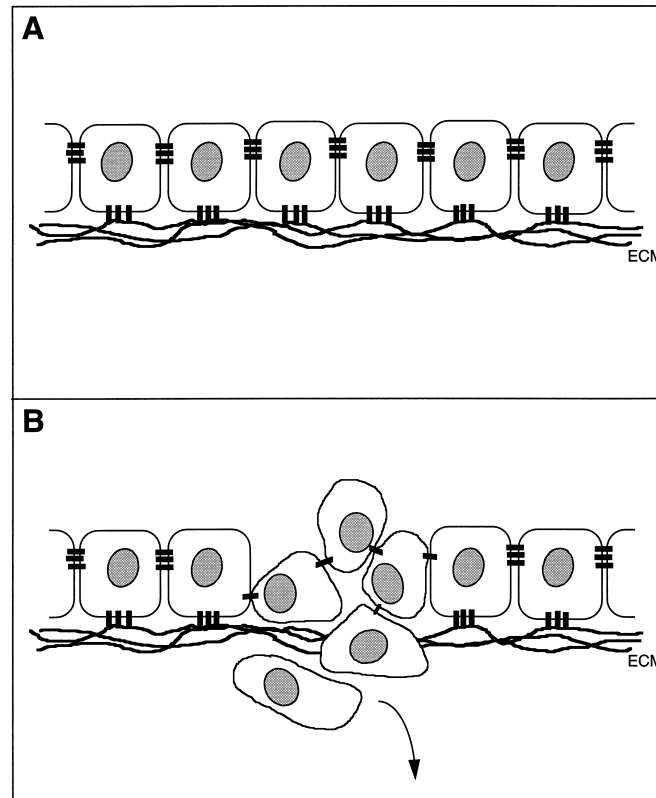


Abb.1: Schematische Darstellung eines Zellverbandes im Gewebe, im Längsschnitt. Die einzelnen Zellen sind annähernd kubisch, sie sind von einer Zellmembran umgeben und enthalten je einen Zellkern (grau). Die Zellen sitzen auf den Fibrillen der extrazellulären Matrix (ECM). (A) Normales einschichtiges Gewebe, wie es zum Beispiel den Dünndarm oder Drüsenausführgänge auskleidet. Normale Zell-Zell- und Zell-Matrix-Kontakte sind durch jeweils drei kurze Balken angedeutet. (B) Entstehung eines metastasierenden Tumors im normalen Gewebeverband. Die Krebszellen zeichnen sich durch unkontrollierte Vermehrung, Verlust der einschichtigen Organisation und eine veränderte Zellform aus. Letzteres ist häufig mit dem Verlust spezifischer Funktionen verbunden. Zell-Zell- und Zell-Matrix-Kontakte der Tumorzellen sind fehlerhaft, so daß diese Zellen aus dem Gewebeverband auswandern (angedeutet durch den Pfeil) und Metastasen bilden können.

und menschlichen Geweben isoliert worden sind, und die in Kultur gezüchtet werden können. Wir haben solche Zellen in Kultur, die bevorzugt den einen oder anderen Typ an Kontakten, Zell-Matrix- oder Zell-Zellkontakte, ausbilden. Die Kontakte können durch Zusätze zum Kulturmedium, durch Wahl der extrazellulären Matrixsubstanzen oder durch Mikroinjektion von Molekülen in die einzelnen Zellen mithilfe feiner Glaskapillaren mo-

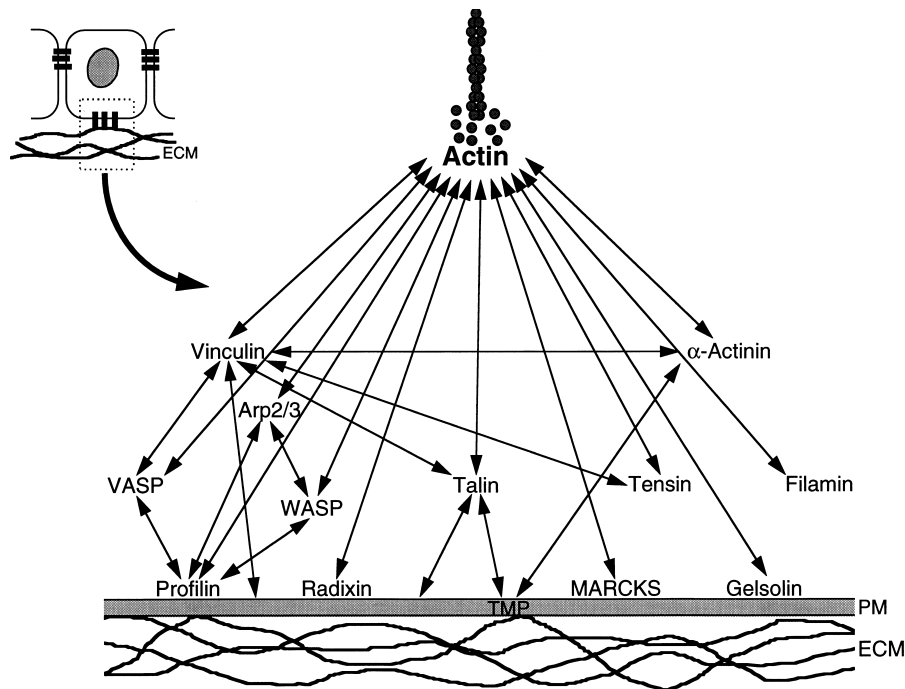


Abb. 2: Schematische Darstellung der wichtigsten Proteine an der intrazellulären Seite eines Zell-Matrix-Kontaktes. Die Skizze links oben stellt den Bezug zu Abbildung 1 her und zeigt den betrachteten Ausschnitt. Die Zellmembran (PM) ist an den Fibrillen der extrazellulären Matrix (ECM) durch Transmembran-Proteine (TMP) verankert. Diese Proteine sind ihrerseits über eine Schar von verschiedenen Proteinen mit den intrazellulären Gerüst-Elementen der Zelle, den Actinfilamenten verbunden. Actinfilamente werden aus Proteinuntereinheiten (Kugeln) durch Selbstorganisation gebildet und tragen durch ihre vielfältige Wechselwirkung mit den Verbindungsproteinen, deren Namen hier eingetragen sind, zur Bildung und Dynamik der Zell-Matrix-Kontakte bei. Die bisher identifizierten Wechselwirkungen sind durch Doppelpfeile gekennzeichnet. Einige der Verbindungsproteine (z.B. Profilin, Radixin, Vinculin) wurden als „Tumorsuppressorproteine“ (siehe Text) identifiziert.

duliert werden, wodurch Rückschlüsse auf ihre Zusammensetzung und ihre Eigenschaften ermöglicht werden. Einzelne Proteinkomponenten der Kontaktstrukturen können aus kultivierten Zellen (aber auch aus tierischen Organen, zum Beispiel aus Schlachthofmaterial) mit biochemischen Methoden gewonnen und analysiert werden. Bequemer, schneller und preiswerter geht das in vielen Fällen heute aber durch gentechnische Methoden: die genetische Information für das entsprechende tierische oder menschliche Protein wird in Bakterien eingebracht, die das gewünschte Eiweiß dann sehr rasch in großer Menge in Kulturflaschen produzieren. Chemische und physikalische Eigenschaften des natürlichen wie des

gentechnisch erzeugten Proteins werden dann untersucht, insbesondere solche, die Wechselwirkungen mit anderen Komponenten der Kontaktstrukturen betreffen. Gentechnische Methoden erlauben aber auch Funktionsanalysen einzelner Proteine in den kultivierten Zellen: eine gentechnisch erzeugte Überexpression oder die Ausschaltung der Synthese einzelner Kontaktproteine erlauben Rückschlüsse auf die Funktion und Bedeutung einzelner Komponenten beim Bau und bei der Dynamik dieser Strukturen, im Kontext des gesamten komplexen Gefüges in der lebenden Zelle.

Mit Hilfe dieser Palette moderner biologischer Methoden ist es uns gelungen, zum heutigen Bild des Aufbaus und der Dynamik der Zellkontakte wichtige Beiträge zu leisten. Abbildung 2 zeigt eine Schar von Proteinen, die an der Innenseite der Zellmembran am Bau eines Zell-Matrix-Kontaktes beteiligt sind. Neben der Katalogisierung und biochemischen Charakterisierung weiterer solcher Eiweiße interessieren uns nun vor allem ihr Zusammenspiel in Komplexen, und deren Regulation. Erst wenn wir die Prinzipien dieser Phänomene entschlüsselt haben, werden wir verstehen können, welche Fehler dabei zur Tumorentstehung und Metastasierung führen. Dabei steht zunächst die Identifizierung einzelner Proteinkomponenten als "Tumorsuppressorproteine" im Vordergrund. Dieser Begriff definiert Proteine, die für die normalen Zellkontakte unentbehrlich sind, und deren Ausfall oder Fehlfunktion zu geschwächten Zellkontakten, unkontrolliertem Wachstum und zur Auswanderung der veränderten Zellen aus dem Primärtumor führt, wie in Abbildung 1 B gezeigt. Solche Proteine könnten einen wichtigen Beitrag zur diagnostischen Klassifizierung von Tumoren mit unterschiedlichem Metastasierungspotential liefern, und damit auch zur optimalen Therapie.

Danksagung

Ich danke meiner Mitarbeiterin, Frau Dr. Kathrin Schlüter, für kompetente Hilfe bei der Erstellung der Abbildungen. Die hier zitierten Untersuchungen unserer eigenen Arbeitsgruppe wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und die Deutsche Krebshilfe (Dr. Mildred Scheel-Stiftung) finanziell unterstützt.

Weiterführende Literatur

KROEMKER, M., RÜDIGER, A. H., JOCKUSCH, B.M. and RÜDIGER, M. (1994). Intramolecular interactions in vinculin control α -actinin binding to the vinculin head. *FEBS Letters* 355, 259-262.

JOCKUSCH, B. M., KROEMKER, M. and SCHLÜTER, K. (1994). Membranemicrofilament attachment sites: The art of contact formation. In: "45th Mosbach Kolloquium: The Cytoskeleton", (B.M. Jockusch, E. Mandelkow and K. Weber, eds.). Springer Verlag, Heidelberg, pp. 49-60.

REINHARD, M., GIEHL, K., ABEL, K., HAFFNER, C., JOCKUSCH, B. M. and WALTER, U. (1995). The proline-rich focal adhesion and microfilament-associated protein VASP as a ligand of profilins. *EMBO J.* 14, 1583-1589.

- JOCKUSCH, B.M., BUBECK, P., GIEHL, K., KROEMKER, M., MOSCHNER, J., ROTHKEGEL L. M., RÜDIGER, M., SCHLÜTER, K., STANKE, G. and WINKLER, J. (1995). The molecular architecture of focal adhesions. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 11, Ann. Revs Inc., pp. 379-416.
- SCHWIENBACHER, C., JOCKUSCH, B. M. and RÜDIGER, M. (1996). Intramolecular interactions regulate serine/threonine phosphorylation of vinculin. *FEBS Lett.*, 384, 71-74.
- JOCKUSCH, B. M. and RÜDIGER, M. (1996). Crosstalk between cell adhesion molecules: vinculin as a paradigm for regulation by conformation. *trends in cell biology*, 6, 311-315.
- REINHARD, M., RÜDIGER, M., JOCKUSCH, B. M. and WALTER, U. (1996). VASP interaction with vinculin: a recurring theme of interactions with proline-rich motifs. *FEBS Letters*, 399, 103-107.
- SCHLÜTER, K., JOCKUSCH, B. M. and ROTHKEGEL, M. (1997) Profilins as regulators of actin dynamics. *Biochim. Biophys. Acta*, 97-109.
- WEISS, E. E., KROEMKER, M., JOCKUSCH, B. M. and RÜDIGER, M. (1998). α -Catenin and vinculin: complex formation and comparison of ligand binding. *J. Cell Biol.* 141, 755-764.
- HÜTTELMAIER, S., MAYBORODA, O., HARBECK, B., JARCHAU, T., JOCKUSCH, B. M. and RÜDIGER, M. (1998). The interaction of the cell contact proteins VASP and vinculin is regulated by the signalling molecule phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate. *Curr. Biology*, 8, 479-488.
- HÜTTELMAIER, S., HARBECK, B., STEFFENS, N. O., MESSERSCHMIDT, T., ILLENBERGER, S. and JOCKUSCH, B. M. (1999). Characterization of the actin-binding properties of the vasodilator-stimulated phosphoprotein VASP. *FEBS Lett.*, 451, 68-74.

Prof. Dr. Brigitte M. Jockusch
 Zoologisches Institut - Zellbiologie
 Spielmannstr. 7 · D-38106 Braunschweig